



Identificação de Associações com Bactérias Fixadoras em Palmeiras Nativas



República Federativa do Brasil

Presidente

Fernando Henrique Cardoso

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

Ministro

Francisco Turra

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa

Diretor Presidente

Alberto Duque Portugal

Diretores

Elza Ângela Battaggia Brito da Cunha

Dante Daniel Giacomelli Scolari

José Roberto Rodrigues Peres

Chefias da Agrobiologia

Chefe Geral: Maria Cristina Prata Neves

Chefe Adj. de Pesq. e Desenvolvimento: Sebastião Manhães Souto

Chefe Adjunto Administrativo: Vanderlei Pinto

DOCUMENTO Nº 74

ISSN 0104-6187

Novembro 1998

**Identificação de Associações com Bactérias Fixadoras em
Palmeiras Nativas**

Johanna Döbereiner
Vera Lúcia Divan Baldani
André Ricardo Vieira de Carvalho
Kleber Cozzolino
Verônica Massena Reis

Seropédica - RJ
1998

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa *Agrobiologia*
Caixa Postal 74505
23851-970 - Seropédica – RJ
Telefone: (021) 682-1500
Fax: (021) 682-1230
E-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Expediente:

Revisor: Sebastião Manhães Souto

Normalização Bibliográfica/Confecção/Padronização: Dorimar dos Santos Felix
Sérgio Alexandre Lima

Comitê de Publicações: Sebastião Manhães Souto(Presidente)

Johanna Döbereiner
José Ivo Baldani
Norma Gouvêa Rumjanek
José Antônio Ramos Pereira
Paulo Augusto da Eira
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, A.R.V. de; COZZOLINO, K.; REIS, V.M. **Identificação de associações com bactérias fixadoras em palmeiras nativas.** Seropédica: Embrapa *Agrobiologia*, nov. 1998. 15p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 74).

ISSN 0104-6187

1. Palmeira oleaginosa. 2. Fixação biológica de nitrogênio (FBN). 3. Bactéria. I. Baldani, V.L.D., colab. II. Carvalho, A.R.V., colab. III. Cozzolino, K., colab. IV. Reis, V.M., colab. V. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). VI. Título. VII. Série.

CDD 584.5

S U M Á R I O

1. RESUMO	4
2. INTRODUÇÃO	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
4. RESULTADOS.....	8
5. BIBLIOGRAFIA CITADA	15

Identificação de Associações com Bactérias Fixadoras em Palmeiras Nativas¹

Johanna Döbereiner²
Vera Lúcia Divan Baldani²
André Ricardo Vieira de Carvalho³
José Ivo Baldani²
Kátia Regina dos Santos Teixeira²
Verônica Massena Reis²

Este documento vem apresentar os resultados de pesquisa obtidos no subprojeto institucional número 01.0.96.031.02 durante o ano de 1997. Este trabalho está vinculado ao projeto “Identificação e uso de bactérias diazotróficas em gramíneas e outras plantas não leguminosas”. Este projeto teve início em 1996, com término em 1999 e é constituído de 6 subprojetos. Para maiores informações sobre o andamento dos subprojetos 01 que estuda as associações com cana-de-açúcar, capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e *Brachiaria* spp., leia o documento de número 75. Já as ações de milho e arroz referentes ao subprojeto 04, leia o documento número 73.

1. Resumo

A adubação nitrogenada se destaca como insumo que mais onera o custo de produção. Com o objetivo de procurar alternativas minimizar estes custos, foi estudada a ocorrência de bactérias fixadoras de nitrogênio nas raízes, colmo e folhas de três palmeiras: dendê (*Elaeis guineensis*), pupunha (*Bactris gasipaes*) e açai (*Euterpe oleracea*). Foram isoladas diversas bactérias diazotróficas que foram submetidas a testes fisiológicos juntamente com os "type strains" de bactérias conhecidas na tentativa de identificar estes novos isolados como sendo espécies conhecidas. Por este método foram identificados *A. amazonense*, *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *H. seropedicae* e *Beijerinckia* spp. Além destas, diversos outros isolados não foram identificados,

¹ O trabalho refere-se ao relatório anual (1997) do subprojeto 01.0.96.031.02, com o mesmo nome.

² Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Km 47, Caixa Postal 74505, Cep 23851970, Seropédica-RJ.

³ Estudante de Pós-graduação da UFFRJ/Embrapa-Agrobiologia.

porém foram agrupados de acordo com suas características fisiológicas e morfológicas e a partir destes grupos estão sendo conduzidos testes na tentativa de identificar estes isolados como espécies já conhecidas ou mesmo caracterizar novas espécies. Após estes resultados promissores, foram feitas novas coletas em áreas de plantio de dendê e pupunha na Amazônia, visando obter uma coleção de estirpes destes grupos para avaliar a biodiversidade associada a estas palmeiras. Também foram feitos estudos sobre a inoculação de bactérias e micorrizas em plantas de pupunha e dendê e avaliadas quanto a presença dos microrganismos inoculados e eficiência da absorção e utilização de nitrogênio e fósforo.

2. Introdução

Há no Brasil um interesse crescente de complementar o Proalcool com fontes alternativas de óleo vegetal para reduzir os efeitos poluidores do óleo diesel. Como no caso do álcool, o balanço energético da cultura representa a chave do sucesso. Tentativas em países desenvolvidos utilizando colza e outras oleaginosas que necessitam elevadas doses de fertilizante nitrogenado, mostram balanços energéticos pouco acima de 1, tornando este tipo de trabalho inviável. Existem nos trópicos e especialmente no Norte e Nordeste do Brasil as palmeiras oleaginosas, principalmente o dendê (*Elaeis guineensis* Lacq.) e a pupunha (*Bactris gasipaes*), que produzem 5 vezes mais óleo por hectare que a soja ou a colza e 70% mais energia que o álcool produzido de cana-de-açúcar (Dobereiner, 1987). Testes de respostas destas palmeiras a adubação nitrogenada foram, em sua maioria, resultados negativos nas condições testadas no Brasil. Recentemente, ensaios preliminares mostraram a presença de bactérias diazotróficas, provavelmente novas, nas raízes, colmos e folhas de dendê e pupunha (Ferreira et al., 1994) justificando o aprofundamento da pesquisa também nesta área.

3. Material de Métodos

A inoculação de uma mistura de diferentes estirpes de bactérias diazotróficas utilizou sementes de dendê e pupunha. O inóculo bacteriano foi dividido entre: isolado padrão de três espécies já conhecidas e 3 estirpes isoladas de palmeiras (conforme descrito abaixo). Além destes tratamentos, foi utilizado um inóculo de micorrizas arbusculares que foi diferente para cada cultura (dendê e pupunha, veja a seguir). Como testemunha foi adotado um tratamento sem

nitrogênio e sem inoculação e uma testemunha nitrogenada sem inoculação. As mudas inoculadas foram plantadas em substrato estéril adubado com potássio, fosfato de rocha e micronutrientes, mas sem N (menos na testemunha nitrogenada). Ao final de 270 dias foi avaliada a presença das bactérias e dos fungos inoculados além de diversos parâmetros de crescimento das plantas. Também foram feitas avaliações sobre o conteúdo de diversos elementos como N, P e K.

EXPERIMENTO 1: Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de Pupunha

O substrato deste ensaio foi composto por uma mistura de solo do horizonte B de Podzólico Vermelho-amarelo (Alfissol); areia lavada e fosfato de rocha Patos de Minas na proporção de 7:2:1 (v:v) acrescido de 2,11g de FTE Br 12 para cada 3 kg da mistura. O substrato foi fumigado com brometo de metila. Os resultados da análise química do substrato pós fumigação apresentaram por 100g de substrato os seguintes teores: Al: 0,0 mmol c; Ca + Mg: 39 mmol c; Ca: 26 mmol c e P: 4,35 mg; K: 41 mg; N: 0,6 g por kg de substrato e o pH em água: 6,3.

O experimento, conduzido em blocos ao acaso, em casa de vegetação, utilizando sacos de polietileno contendo 3 kg de substrato, constou de 10 repetições e 8 tratamentos representados pelo FMA (*Glomus clarum*) com 14 mg de N na forma de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, a cada 25 dias (T1); 14 mg de N a cada 25 dias (T2); *G. clarum* sem N-mineral (T3); inoculação de uma mistura de estirpes padrões de *Azospirillum lipoferum*, *Herbaspirillum seropedicae* e *Burkholderia* sp e *G. Clarum* (T4); uma mistura de 3 bactérias diazotróficas, isoladas de raízes de pupunheira e dendezeiro, *Herbaspirillum* spp, *A. brasilense* e o *G. clarum* (T5); tratamento 4 sem o FMA (T6); tratamento 5 sem o FMA (T7) e a testemunha simples (T8). As mudas foram mantidas em casa de vegetação, por 270 dias após a inoculação (DAI). Foram utilizadas plântulas pré-germinadas de pupunheiras sem espinhos. As bactérias diazotróficas foram inoculadas no momento do plantio das plântulas com turfa na quantidade de 9,53 g. saco-1, contendo 10^8 cél.g⁻¹. A inoculação do FMA foi feita com 1 ml de suspensão contendo aproximadamente 30 esporos de *Glomus clarum*. As plantas foram irrigadas com água deionizada, e mantidas a 70% da capacidade de retenção de umidade do substrato. Foram avaliados os parâmetros N, P, K- total da parte aérea e raiz, área foliar, peso de raiz e parte aérea secas e eficiência de utilização de N e P na raiz e parte aérea aos 270 dias após a inoculação e diâmetro do colo e altura (medida da região

do colo até a inserção da folha mais nova) aos 90, 180 e 270 dias após a inoculação. Ao final do ensaio as raízes foram clarificadas e coradas e os esporos foram recuperados por peneiramento úmido. A quantificação das bactérias diazotróficas foi feita usando o método do número mais provável (NMP) em raízes e parte aérea. Todos os dados foram avaliados com base no teste de variância e no teste de comparação de médias (Tukey a nível de 5%).

EXPERIMENTO 2: Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de dendezeiro

O substrato deste ensaio foi composto por 45% de solo do horizonte B de um Podzólico Vermelho-amarelo (Alfissol); 45% de areia lavada e 10% de Fosfato de rocha Patos de Minas e 2,11g de FTE Br 12 para cada 3 kg da mistura. O substrato foi fumigado com brometo de metila. A análise química após a fumigação revelou, por 100 g de substrato os seguintes teores: Al: 0,0 mmol c; Ca: 25 mmol c; Ca + Mg: 43 mmol c e P: 4,86 mg; K: 45 mg; N: 0,61g por kg de substrato e o pH em água: 6,1.

O experimento, conduzido em blocos ao acaso, em casa de vegetação, em sacos de polietileno contendo 3 kg de substrato, constou de 12 repetições e 9 tratamentos: testemunha (T1); 14 mg de N na forma de $((\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4)$ a cada 25 dias (T2); inoculação de 3 bactérias diazotróficas isoladas de raízes de palmeiras (T3); inoculação de uma mistura de estirpes padrões de *Azospirillum lipoferum* 260, *H. seropedicae* Z67 e *Burkholderia brasilensis* M130 (T4), mistura dos FMA *Scutellospora heterogama*, *S. gregaria* e *Glomus clarum* (T5), tratamento 3 mais os FMA (T6), tratamento 4 mais os FMA (T7), 14 mg de N a cada 25 dias mais os FMA (T8); os tratamentos 3 e 4 sem os FMA (T9).

As mudas ficaram em casa de vegetação por 270 dias após a inoculação. Foram utilizadas plântulas com 45 dias após a germinação, retiradas de plantas da variedade Dupey (Procedentes da Ceplac-BA). As bactérias diazotróficas foram inoculadas no momento do plantio das plântulas nos sacos, utilizando-se 2 ml saco^{-1} de uma suspensão bacteriana, contendo 10^8 células ml^{-1} . A inoculação do FMA foi feita com 1 ml de suspensão contendo aproximadamente 100 esporos de cada espécie utilizada (*S. heterogama*, *S. gregaria* e *G. clarum*). As plantas foram irrigadas com água deionizada e mantidas a 70% da capacidade de retenção de umidade do substrato.

Foram avaliados os parâmetros, N, P, K-total da parte aérea e raiz; área foliar; peso de raiz e parte aérea secas e eficiência de utilização de N e P na raiz e parte aérea com 270 dias após a

inoculação, além de diâmetro do colo e altura (medida do colo até a inserção da folha mais nova) com 90, 180 e 270 dias após inoculação. Ao final do ensaio as raízes foram clarificadas e coradas. Os esporos foram separados por peneiramento úmido. A quantificação das bactérias diazotróficas usando o método do número mais provável (NMP) em raízes e parte aérea. Todos os dados foram avaliados com base no teste de variância e no teste de comparação de médias (Tukey 5%).

Também foram feitas coletas de dendê e pupunha sob diferentes sistemas de manejo e avaliado o número populacional de bactérias diazotróficas usando a metodologia descrita por Dobereiner et al., (1995).

4. Resultados

EXPERIMENTO 1: Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de Pupunha

A altura das plantas aos 180 dias após a inoculação (Fig. 1), nos tratamentos inoculados com as bactérias diazotróficas, com ou sem o FMA, foram superiores à testemunha simples, embora estes tenham sido inferiores aos tratamentos com a aplicação de N-mineral tanto isoladamente quanto combinado com FMA. Outro importante resultado foi o diâmetro medido aos 270 DAI (Fig.2), onde os tratamentos *G.clarum* (T3) ; Estirpes Padrões + *G.clarum* (T4); Isolados de palmeiras + *G.clarum* (T5) e o tratamento, inoculado com isolados de palmeira (T7), expressaram um desempenho estatisticamente semelhante à testemunha nitrogenada (T2). No peso da matéria seca da parte aérea (Fig. 3), foi verificado que os tratamentos com N-mineral (T1 e T2), e os tratamento micorrizados, associados ou não, com as estirpes padrões (T3 e T4), foram superiores à testemunha. Outro ponto importante observado foi o fato dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas (T4, T5 e T6) apresentarem um comportamento semelhante ao tratamento nitrogenado (T2). Para eficiência de uso de N na raiz (Fig. 4) e na parte aérea (Fig. 5), os resultados indicaram que não só os tratamentos nitrogenados, como também os associados às bactérias diazotróficas e aos FMA promoveram uma maior eficiência na utilização de N pelas mudas de pupunheiras em relação à testemunha (T8). Para eficiência de uso de P nas raízes (Fig. 6) e na parte aérea (Fig. 7) constatou-se que todos os tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas, associadas (T4 e T5) ou não ao FMA (T6 e T7), assim como a

testemunha micorrizada nitrogenada (T1), micorrizada (T3) e a testemunha nitrogenada (T2) foram superiores à testemunha (T8).

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey 5 %

Obs: Ordenadas das figuras 4, 5, 6 e 7 (X 1000).

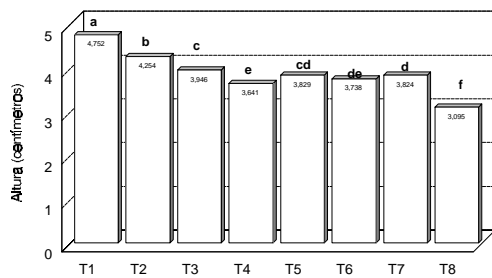


Figura 1. Altura, medida do colo até o último par de folha mais nova aberta, em mudas de Pupunha após 180 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares..

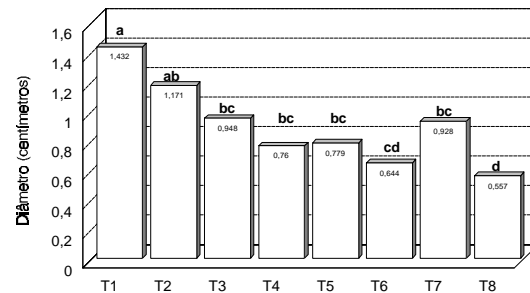


Figura 2. Diâmetro, medido a altura do colo, em mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares

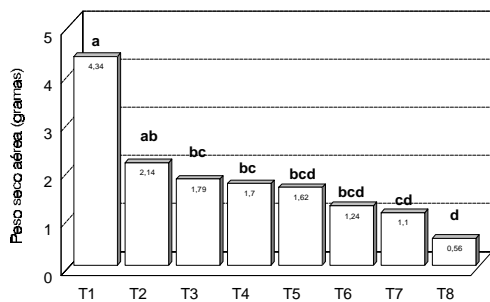


Figura 3. Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de Pupunha após 270 dias de inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.

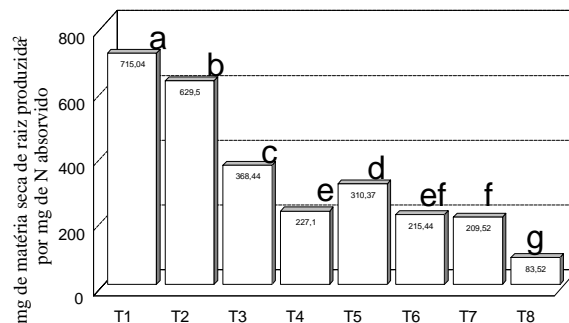


Fig 4. Eficiência de utilização de Nitrogênio em raízes de mudas de Pupunha, 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos micorrízicos arbusculares.

A pupunheira, mostrou-se bastante responsiva ao N na fase de viveiro. O tratamento com N-mineral associado ao *G. clarum* foi o tratamento que mostrou a melhor performance nos parâmetros analisados. O comportamento das bactérias diazotróficas, inoculadas ou não, com o FMA apesar de conferirem eficiência na utilização de nitrogênio na planta, apresentaram um comportamento semelhante à testemunha em relação à acumulação de N na planta. Embora seja um assunto de grande interesse científico, não temos subsídios suficientes para maiores discussões sobre a influência recíproca dos microrganismos aqui estudados e, a sua influência no desenvolvimento desta palmeira.

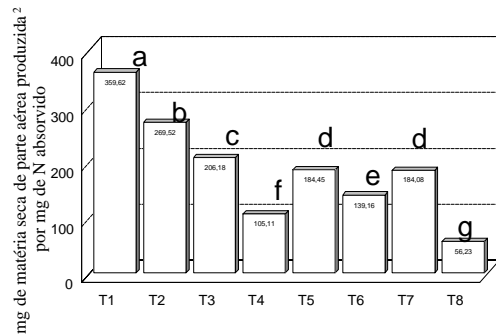


Fig 5. Eficiência de utilização de Nitrogênio na parte aérea de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos MA.

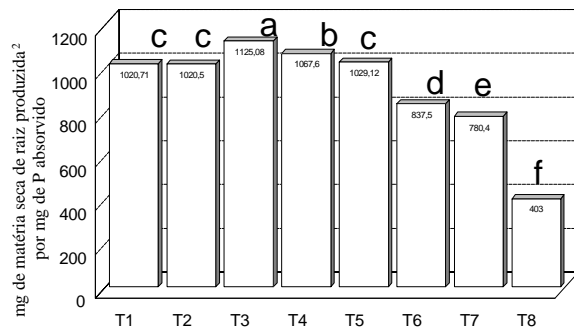


Fig 6. Eficiência de utilização de Fósforo nas raízes de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos MA.

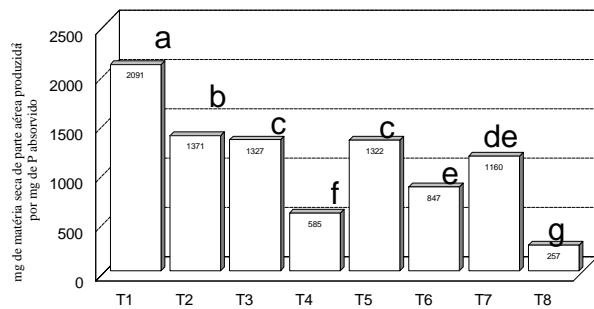


Fig 7. Eficiência de utilização de Fósforo na parte aérea de mudas de Pupunha , 270 dias após inoculação com Bactérias diazotróficas e Fungos MA.

EXPERIMENTO 2: Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de dendezeiro

Para o diâmetro aos 270 dias após inoculação (DAI), (Fig.1), verificou-se que o tratamento inoculado com os dois grupos de bactérias diazotróficas (T9), foi estatisticamente semelhante à testemunha. É importante ressaltar que; apesar de não existir diferenças significativas entre o tratamento T9 e os tratamentos que foram inoculados com um, ou com o outro grupo de bactérias associadas ou não com os FMA, ou este último sozinho; que este tratamento (T9) foi o único (com exceção do T2 e T8), que conferiu superioridade à testemunha para este parâmetro. Com relação ao parâmetro altura (aos 270 dias), tanto o grupo de diazotróficos isolados de palmeiras como os isolados padrões inoculados conjuntamente, como também individualmente, apesar de

serem inferiores a testemunha nitrogenada e estas associadas aos FMA foram estatisticamente superiores à testemunha. Estas bactérias diazotróficas também podem produzir substâncias promotoras de crescimento, refletindo assim em uma maior altura das plantas. Para o parâmetro área foliar 270 DAI, novamente a inoculação conjunta dos grupos de bactérias diazotróficas (T9) apresentaram comportamento superior à testemunha, comportamento, este não observado quando estas não eram duplamente inoculadas ou quando eram associadas aos FMA. Novamente o tratamento 9 evidenciou comportamento estatisticamente superior tanto à testemunha bem como aos demais tratamentos (com exceção da test. nitrogenada e esta associada aos FMA), desta vez para o parâmetro teor de N nas raízes (fig.4). Na figura 5, observa-se que os tratamentos inoculados com os FMA, testemunha nitrogenada e esta associada aos FMA, evidenciaram teores de P na parte aérea superiores à testemunha.

Cabe aqui salientar que esta palmeira é bastante responsiva tanto ao N como ao P na fase de viveiro e que o tratamento com o N-mineral associado ao *S. heterogama*, *S. gregaria* e *G.clarum* foi o tratamento que apresentou a melhor performance sendo sempre estatisticamente superior aos demais tratamentos. Destaca-se aqui o tratamento 9 (Isolados padrões + Isolados de palmeiras) que apresentou um comportamento bastante satisfatório para alguns parâmetros.

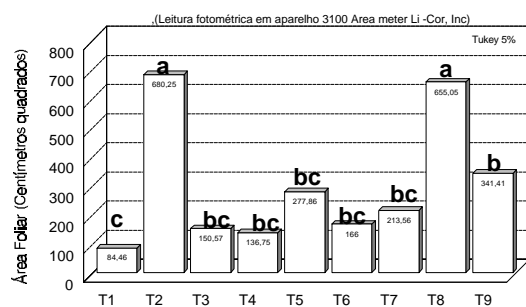


Fig. 3 Área Foliar de mudas de Dendê após 270 dias após a inoculação de bactérias diazotróficas e fungos MA.

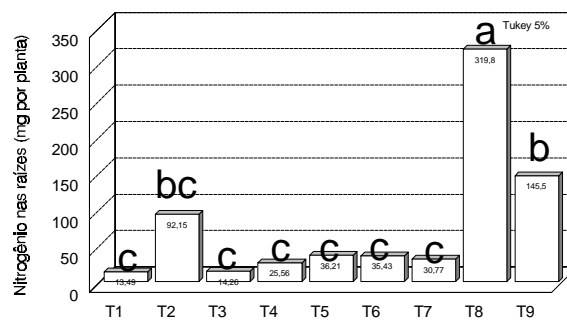


Fig 4. Teor de Nitrogênio nas raízes de mudas de Dendê 270 dias após inoculação com bactérias diazotróficas e fungos MA.

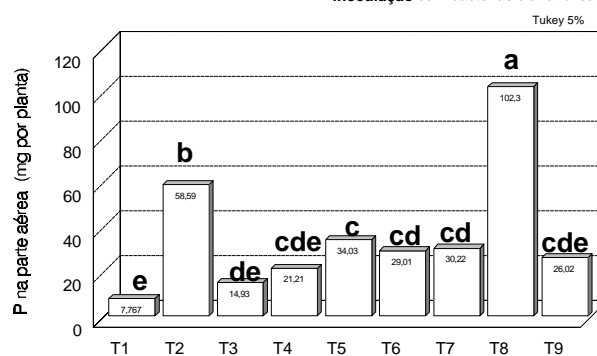


Fig 5. Teor de Fósforo na parte aérea de mudas de Dendê, após 270 dias de inoculação de bactérias diazotróficas e fungos MA

Médias com letras iguais não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5%.

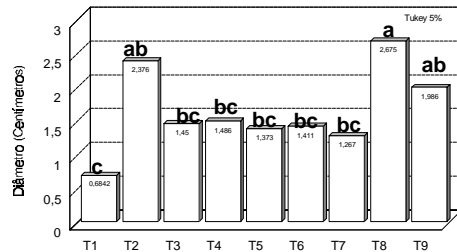


Fig 1. Diâmetro à altura do colo em mudas de Dendê após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos MA

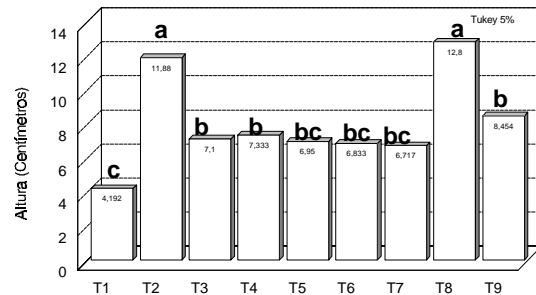


Fig 2. Altura, medida do colo até a inserção da folha mais nova aberta, após 270 dias de inoculação com bactérias diazotróficas e fungos MA em mudas de Dendê.

Isolamento e quantificação de bactérias diazotróficas presentes em palmeiras nativas

Com o objetivo de avaliar a biodiversidade da população de bactérias diazotróficas foram feitas coletas de diversas partes de plantas de: *Elaeis olifera* - espécie nativa de dendezeiro do Amazonas. Genótipo originário de Manicoré (AM), *Elaeis guineensis* - espécie cultivada comercialmente, originária da África, Pupunha, (*Bactris gasipaes* H. B. K) e açaí (*Euterpe oleracea*). Também foram avaliadas plantas de pupunha submetidas a diversos sistemas de cultivo, como a seguir:

- 1- monocultivo com 100% da adubação recomendada;
- 2- policultivo com 30% da adubação recomendada, sem adição de nitrogênio e sem calagem;

3- policultivo com 100% da adubação recomendada;

4- policultivo com 100% da adubação recomendada e 150% da dose recomendada de P_2O_5 .

A estimativa do nº de bactéria nos diferentes genótipos são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas presentes em diferentes genótipos de Dendê (a) e Pupunha (b) plantados na estação experimental da Embrapa Amazônia Ocidental situado no Rio Urubú. Os números significam as máximas diluições onde houve formação de película característica, que indica a presença de bactérias diazotróficas crescendo no meio de cultivo semi-sólido sem nitrogênio (número de células ml^{-1}).

TRATAMENTO	PARTE DA PLANTA	MEIOS DE CULTIVO SEMI-SÓLIDO SEM NITROGÊNIO			
DENDÊ (BA)		JMV	JNFb	NFb	LGI
(DURA)	RAIZES	10^{-6}	NDM	10^{-4}	10^{-4}
(TENERA)	RAIZES	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-2}
(DUMPY)	RAIZES	10^{-4}	10^{-2}	10^{-4}	NDM
(PSIFERA)	RAIZES	NDM	10^{-4}	10^{-4}	NDM
(CAIAUÉ) (<i>Elaeis olifera</i>)	COLMO	NDM	10^{-4}	10^{-3}	NDM
	RAÍZES	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}
	FOLHAS	10^{-4}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-4}
BAHIA (AM)	COLMO	10^{-5}	10^{-3}	10^{-3}	NDM
	RAÍZES	10^{-6}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-3}
	FOLHAS	10^{-4}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}
HÍBRIDO (AM)	COLMO	10^{-4}	10^{-2}	NDM	10^{-2}
	RAÍZES	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-3}
	FOLHAS	10^{-4}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}

b) SISTEMAS DE CULTIVO DE PUPUNHA

TRATAMENTO		PARTE DA PLANTA	MEIOS DE CULTIVO SEMI-SÓLIDO SEM NITROGÊNIO			
			JMV	JNFb	NFb	LGI
TRATAMENTO		PARTE DA PLANTA	MEIOS DE CULTIVO SEMI-SÓLIDO SEM NITROGÊNIO			
			JMV	JNFb	NFb	LGI
PUPUNHA (AM)	1 (*)	RAÍZES	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-5}
		FOLHAS	10^{-4}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-2}
	2	COLMO	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}
		RAÍZES	10^{-6}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-5}
		FOLHAS	10^{-4}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-4}
	3	COLMO	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}
		RAÍZES	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-4}
		FOLHAS	10^{-2}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-3}
	4	COLMO	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	NDM
		RAÍZES	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-6}
		FOLHAS	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}

5. Referências Bibliográficas

- DOBEREINER J.; BALDANI V.L.D.; BALDANI J.I. Como isolar e identificar Bactérias Fixadoras de Nitrogênio em não Leguminosas. Brasília DF: EMBRAPA-SPI: Itaguaí RJ, EMBRAPA-CNPAB, 1995, 60 p, p 11-35.
- DOBEREINER, J. 1987, Nitrogen-fixing bacteria in non leguminous . Crop Plants, 155p, Brock 15 pringer. Series in Contemporary Biosciencies. Tech, publishers, Madison.
- FERREIRA, A. C., COZZOLINO, K., CARVALHO, A. R. V., AND DOBEREINER, J. 1995. Isolation and characterisation of diazotrophic bacteria in oil palm trees. In *International Symposium on Sustainable Agriculture for the Tropics - The role of Biological Nitrogen Fixation* pp. 210-211. Boddey, R. M. and Resende, A. S., Eds. EMBRAPA, Rio de Janeiro.